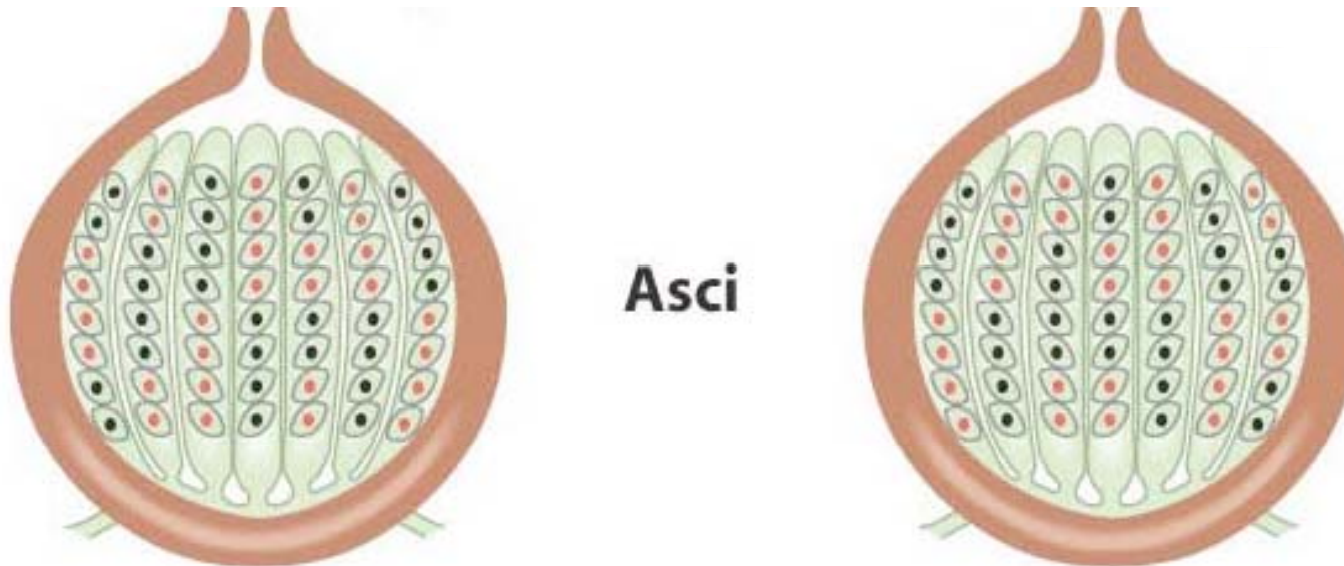


# 5. Oktadenanalyse

## Konzepte:

- ➡ Vorteile der Analyse einzelner Meiosen
- ➡ Centromerkartierung durch Tetraden/Oktaden
- ➡ Berechnung korrekter Kartendistanzen

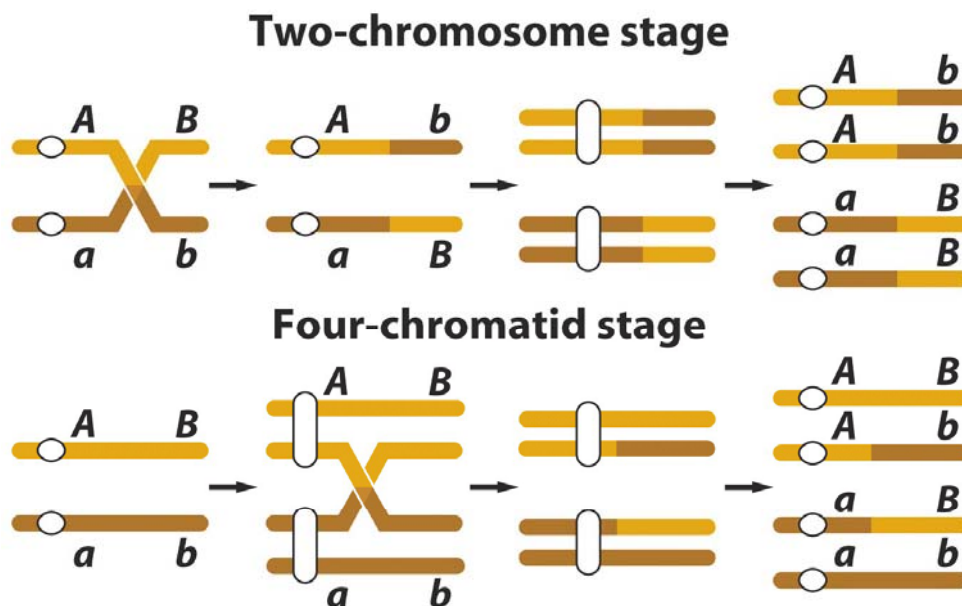
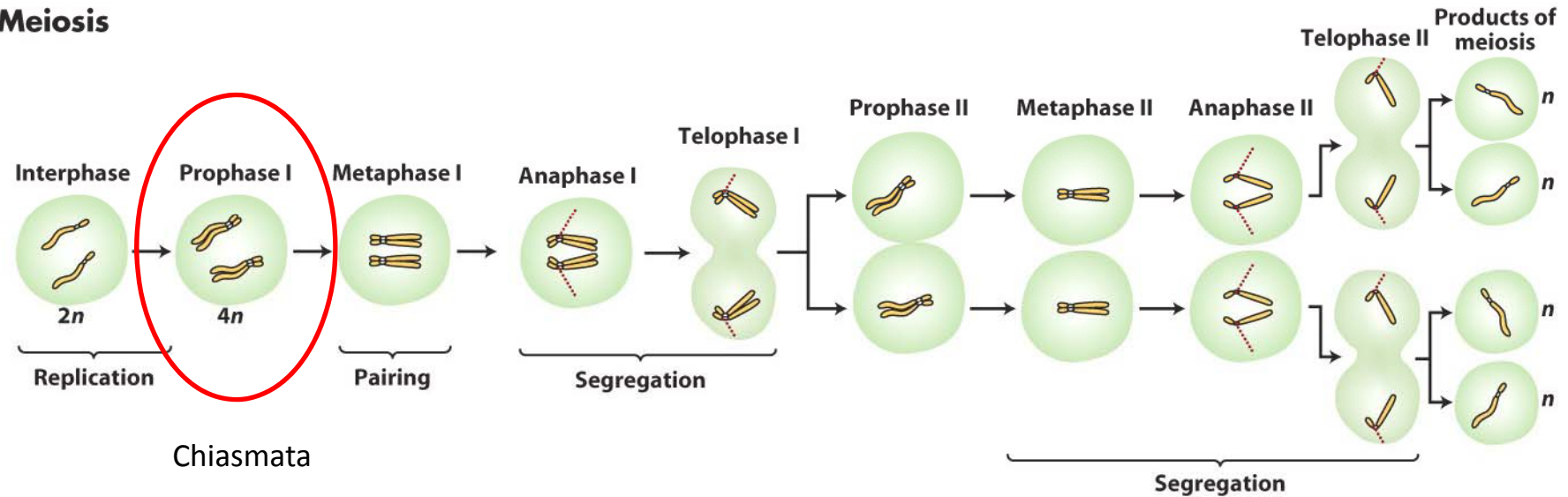


1. Sie führen bei *Neurospora crassa* eine Oktadenanalyse durch und erhalten folgende Ergebnisse:

Oktaden					
A	a	A	a	A	a
A	a	A	a	A	a
A	a	a	A	a	A
A	a	a	A	a	A
a	A	A	a	a	A
a	A	A	a	a	A
a	A	a	A	A	a
a	A	a	A	A	a
244	259	11	21	15	17

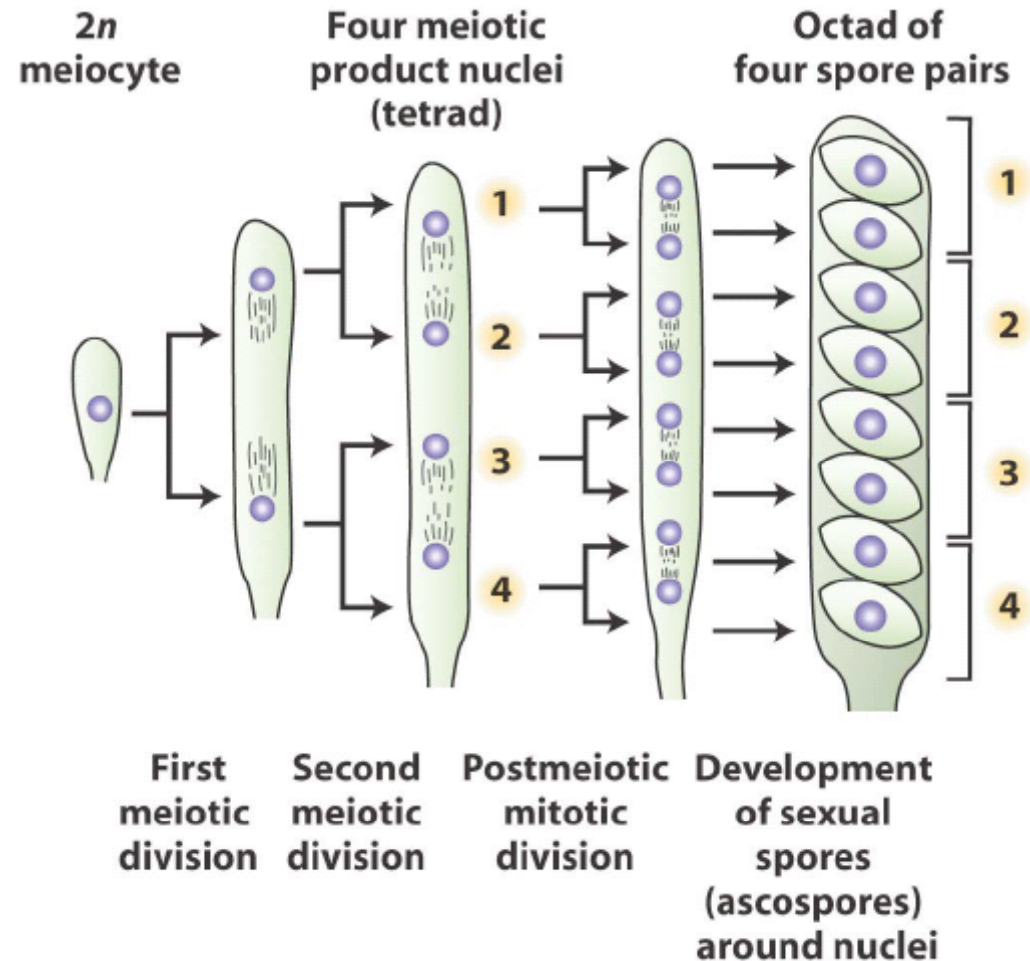
- Erklären Sie Oktaden/Tetraden im Vergleich zu bislang bekannten Meioseprodukten.
- Welche zwei Typen von Oktaden können Sie grundsätzlich unterscheiden?
- Erklären Sie mechanistisch wie die verschiedenen Oktadentypen entstehen.
- Berechnen Sie den Abstand des Gens A vom Centromer.

## Meiosis



Beobachten zufälliger rekombinanter Produkte der Meiose erlaubt es nicht zu bestimmen ob **Crossing-over** Ereignisse während der 'two chromosomes stage' ( $2n$ ) oder der 'four chromatids stage' ( $4n$ ) stattfinden!

Da Tetraden (Meioseprodukte bleiben in einer Zelle zusammen) bis zu 4 verschiedene Genotypen zeigen, könne Crossing-over Ereignisse nur im 'four chromatids stage' stattfinden → 'two chromosomes stage' produziert höchstens 2 verschiedene Genotypen



- Spindeln überlappen sich nicht → Nuclei passieren sich im Ascus nie
- wahrscheinlich weil 1. + 2. meiotische Teilung im röhrenförmigen Ascus stattfinden → überlappen physikalisch nicht möglich
- Resultat: linear angeordnete Nuclei, deren Entstehen während der Meiose durch ihre Sequenz im Ascus nachvollziehbar ist

1b. Welche zwei Typen von Oktaden können Sie grundsätzlich unterscheiden?

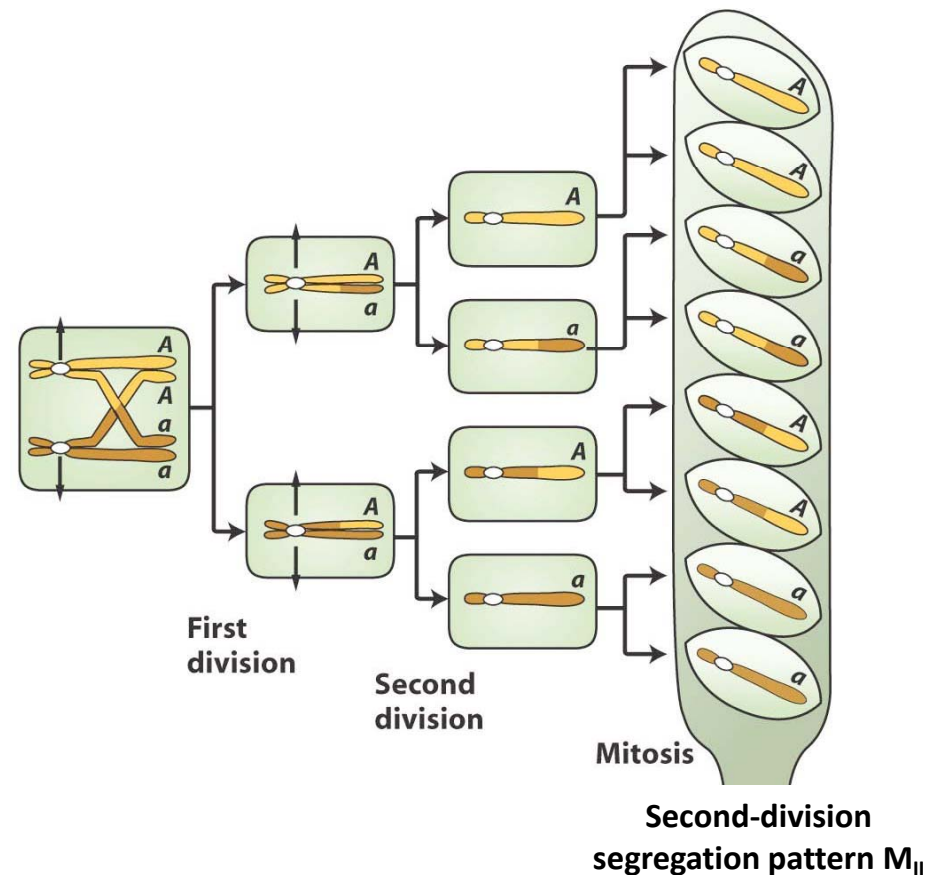
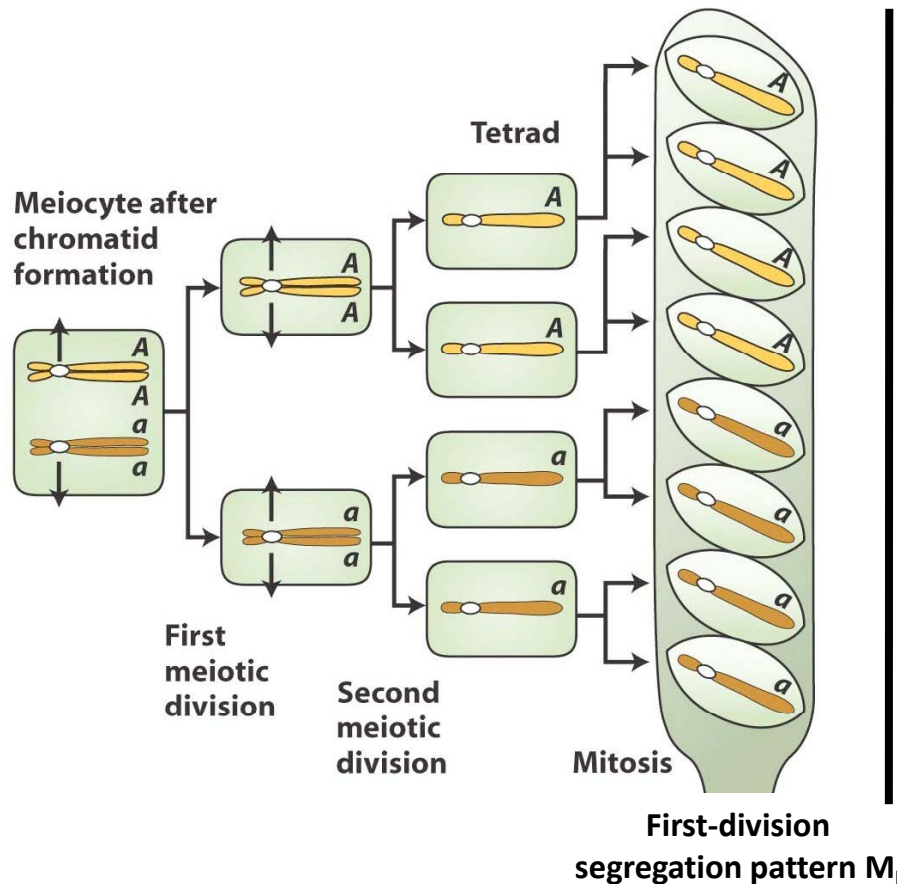
– ***“First division segregation pattern”***

A und a werden in der ersten meiotischen Teilung getrennt

→ A oben, a unten

– ***“Second division segregation pattern”***

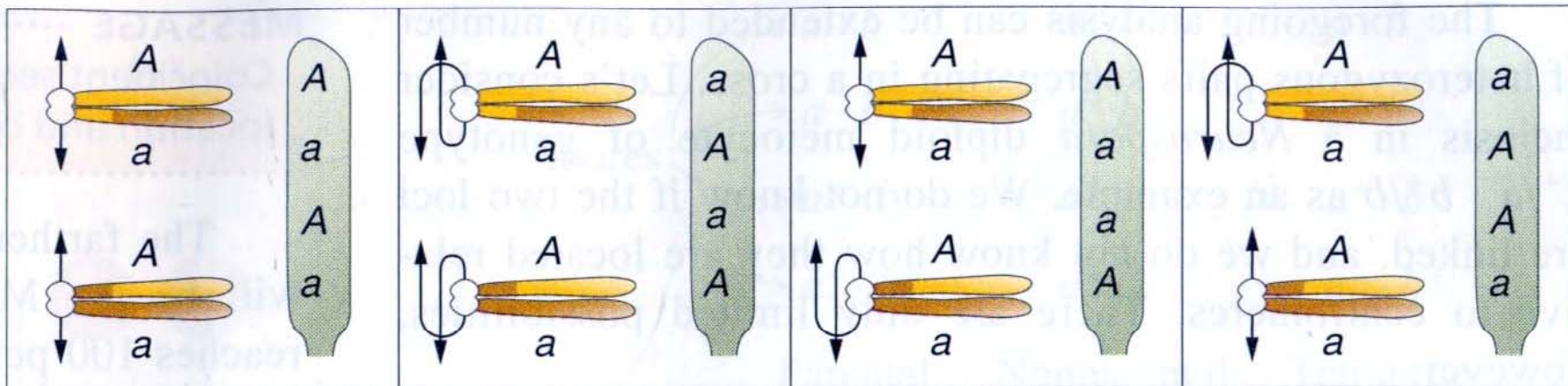
Crossing-over in der Meiozyte führt dazu, dass A und a erst nach der zweiten meiotischen Teilung in unterschiedliche Nuclei aufgeteilt werden.






1c. Erklären Sie mechanistisch wie die verschiedenen Oktadentypen entstehen.

Bei der zweiten meiotischen Teilung setzen die Spindeln an den beiden Centromeren an und ziehen in entgegengesetzte Richtungen. Dabei gibt es theoretisch 4 verschiedene Möglichkeiten:



1d. Berechnen Sie den Abstand des Gens A vom Centromer.

Oktaden					
A	a	A	a	A	a
A	a	A	a	A	a
A	a	a	A	a	A
A	a	a	A	a	A
a	A	A	a	a	A
a	A	A	a	a	A
a	A	a	A	A	a
a	A	a	A	A	a
244	259	11	21	15	17


  
 $n = 567$

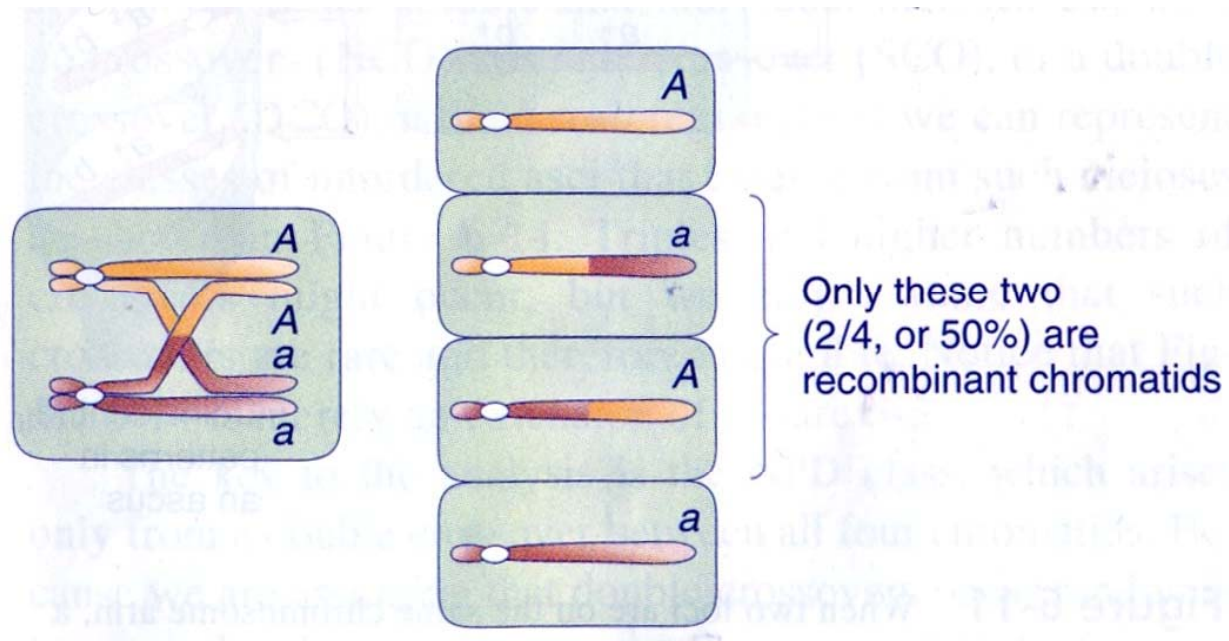
$$\text{Map units} = \frac{\text{Anzahl rekombinanter Individuen}}{\text{Gesamtzahl der Individuen}} \times 100$$

$$= \frac{11 + 21 + 15 + 17}{567} \times 100 = 11,3$$

$$\text{Map units} = \frac{11 + 21 + 15 + 17}{567} \times 100 = 11,3$$

**Def. map units:**

% rekombinante Chromosomen, die aus einer Meiose stammen



Nur 50% der Chromatiden einer Meiose  
sind rekombinant → errechneter Wert / 2

$$11,3 / 2 = 5,65 \text{ m.u.}$$



2. Sie analysieren die Nachkommen einer Kreuzung zweier haploider *Neurospora crassa* Stämme (*Ab* X *aB*).

1	2	3	4	5	6	7
<i>Ab</i>	<i>AB</i>	<i>Ab</i>	<i>AB</i>	<i>Ab</i>	<i>AB</i>	<i>AB</i>
<i>Ab</i>	<i>AB</i>	<i>Ab</i>	<i>AB</i>	<i>Ab</i>	<i>AB</i>	<i>AB</i>
<i>ab</i>	<i>Ab</i>	<i>Ab</i>	<i>ab</i>	<i>aB</i>	<i>ab</i>	<i>AB</i>
<i>ab</i>	<i>Ab</i>	<i>Ab</i>	<i>ab</i>	<i>aB</i>	<i>ab</i>	<i>AB</i>
<i>AB</i>	<i>aB</i>	<i>aB</i>	<i>Ab</i>	<i>Ab</i>	<i>AB</i>	<i>ab</i>
<i>AB</i>	<i>aB</i>	<i>aB</i>	<i>Ab</i>	<i>Ab</i>	<i>AB</i>	<i>ab</i>
<i>aB</i>	<i>ab</i>	<i>aB</i>	<i>aB</i>	<i>aB</i>	<i>ab</i>	<i>ab</i>
<i>aB</i>	<i>ab</i>	<i>aB</i>	<i>aB</i>	<i>aB</i>	<i>ab</i>	<i>ab</i>
3	47	421	2	39	1	1

- Berechnen Sie den Abstand des A und des B Gens vom Centromer.
- Sind A und B gekoppelt?
- Berechnen Sie die korrekte Distanz zwischen A und B.

2a. Berechnen Sie den Abstand von des A und des B-Gens vom Centromer.

1	2	3	4	5	6	7
<i>Ab</i>	<i>AB</i>	<i>Ab</i>	<i>AB</i>	<i>Ab</i>	<i>AB</i>	<i>AB</i>
<i>Ab</i>	<i>AB</i>	<i>Ab</i>	<i>AB</i>	<i>Ab</i>	<i>AB</i>	<i>AB</i>
<i>ab</i>	<i>Ab</i>	<i>Ab</i>	<i>ab</i>	<i>aB</i>	<i>ab</i>	<i>AB</i>
<i>ab</i>	<i>Ab</i>	<i>Ab</i>	<i>ab</i>	<i>aB</i>	<i>ab</i>	<i>AB</i>
<i>AB</i>	<i>aB</i>	<i>aB</i>	<i>Ab</i>	<i>Ab</i>	<i>AB</i>	<i>ab</i>
<i>AB</i>	<i>aB</i>	<i>aB</i>	<i>Ab</i>	<i>Ab</i>	<i>AB</i>	<i>ab</i>
<i>aB</i>	<i>ab</i>	<i>aB</i>	<i>aB</i>	<i>aB</i>	<i>ab</i>	<i>ab</i>
<i>aB</i>	<i>ab</i>	<i>aB</i>	<i>aB</i>	<i>aB</i>	<i>ab</i>	<i>ab</i>
3	47	421	2	39	1	1

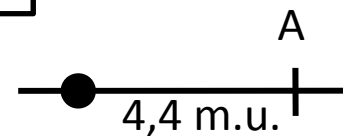
#### A – Centromer:

- AAAA u. aaaa Abfolgen = parental → alle anderen rekombinant

$$\text{Map units} = 0,5 \times \frac{\text{Anzahl der rekombinanter Individuen}}{\text{Gesamtzahl der Individuen}} \times 100$$

→ Ascus-Typen **1** + **4** + **5** + **6** sind rekombinant

→ **3** + **2** + **39** + **1** = 45 →  $0,5 \times (45/514) \times 100 = 4,4 \text{ m.u.}$

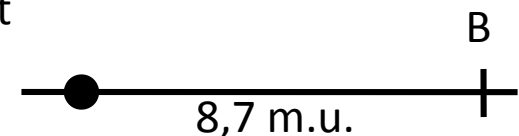


#### B – Centromer:

- BBBB u. bbbb Abfolgen = parental → alle anderen rekombinant

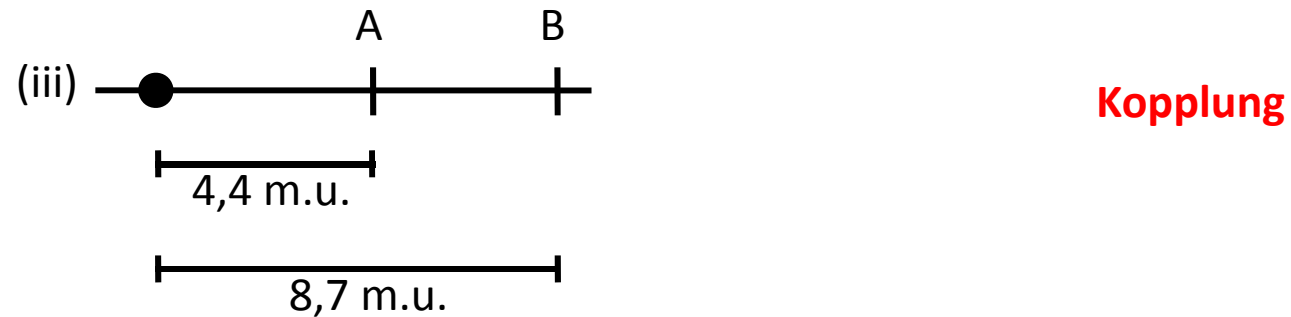
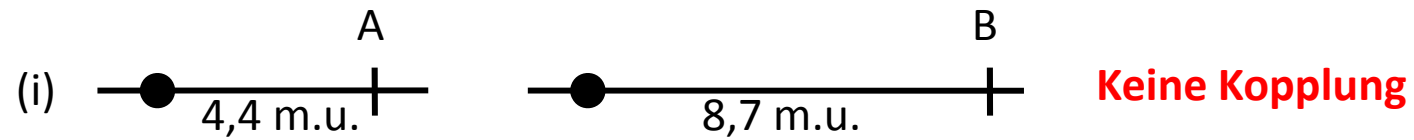
→ Ascus-Typen **2** + **4** + **5** + **6** sind rekombinant

→ **47** + **2** + **39** + **1** = 89 →  $0,5 \times (89/514) \times 100 = 8,7 \text{ m.u.}$



2b. Sind A und B gekoppelt?

3 denkbare Szenarios:



# $Ab \times ab$

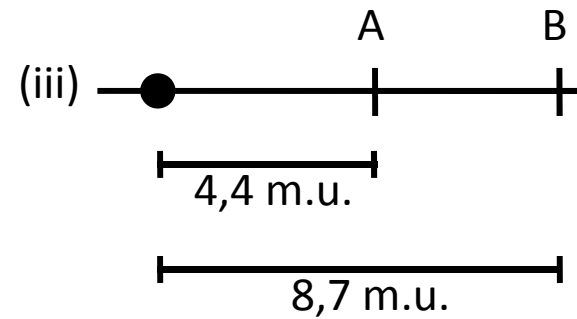
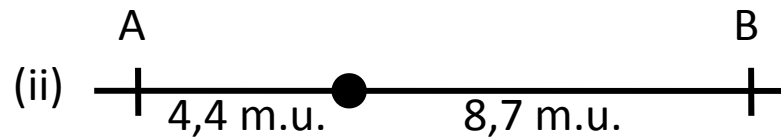
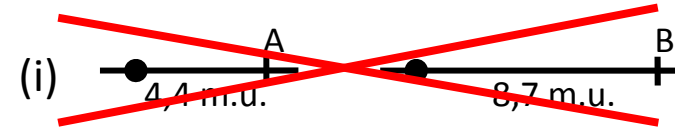
1	2	3	4	5	6	7
$Ab$	$AB$	$Ab$	$AB$	$Ab$	$AB$	$AB$
$Ab$	$AB$	$Ab$	$AB$	$Ab$	$AB$	$AB$
$ab$	$Ab$	$Ab$	$ab$	$aB$	$ab$	$AB$
$ab$	$Ab$	$Ab$	$ab$	$aB$	$ab$	$AB$
$AB$	$aB$	$aB$	$Ab$	$Ab$	$AB$	$ab$
$AB$	$aB$	$aB$	$Ab$	$Ab$	$AB$	$ab$
$aB$	$ab$	$aB$	$aB$	$aB$	$ab$	$ab$
$aB$	$ab$	$aB$	$aB$	$aB$	$ab$	$ab$
3	47	421	2	39	1	1



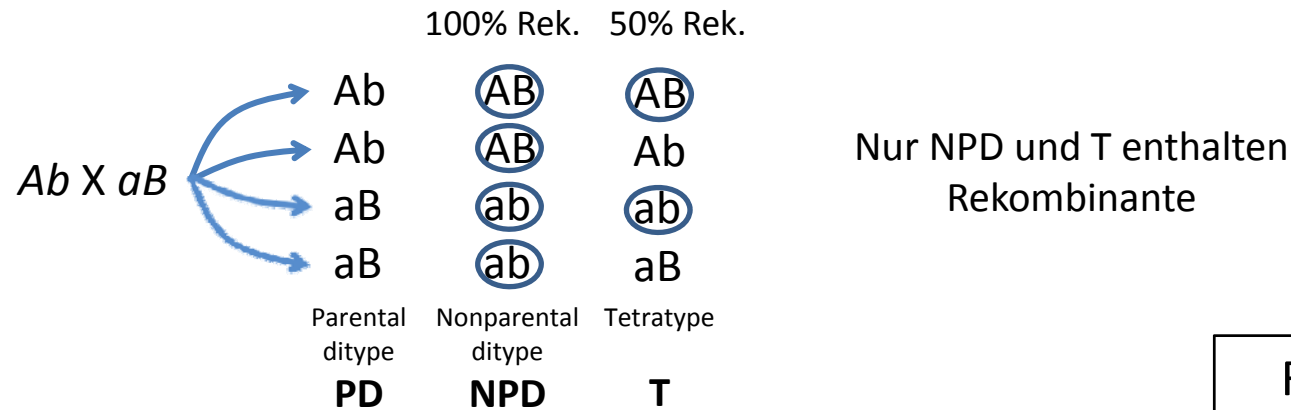
421 von 514 Asci parental  
 $\rightarrow 81,9\%$



Kopplung!



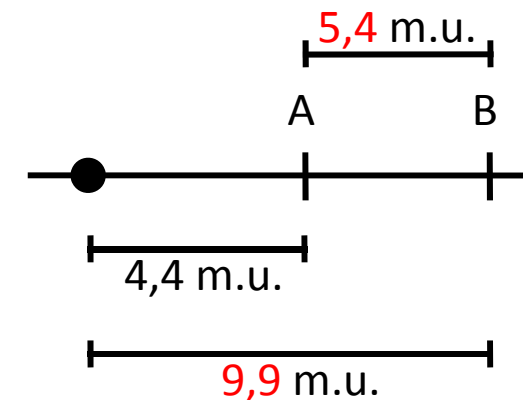
2c. Berechnen Sie die korrekte Distanz zwischen A und B.



$$\text{Rek.} = \frac{1}{2} T + \text{NPD}$$

$$\text{RF} = \left[ \left( \frac{1}{2} \times 52 \right) + 2 \right] / n \times 100 = 5,4\%$$

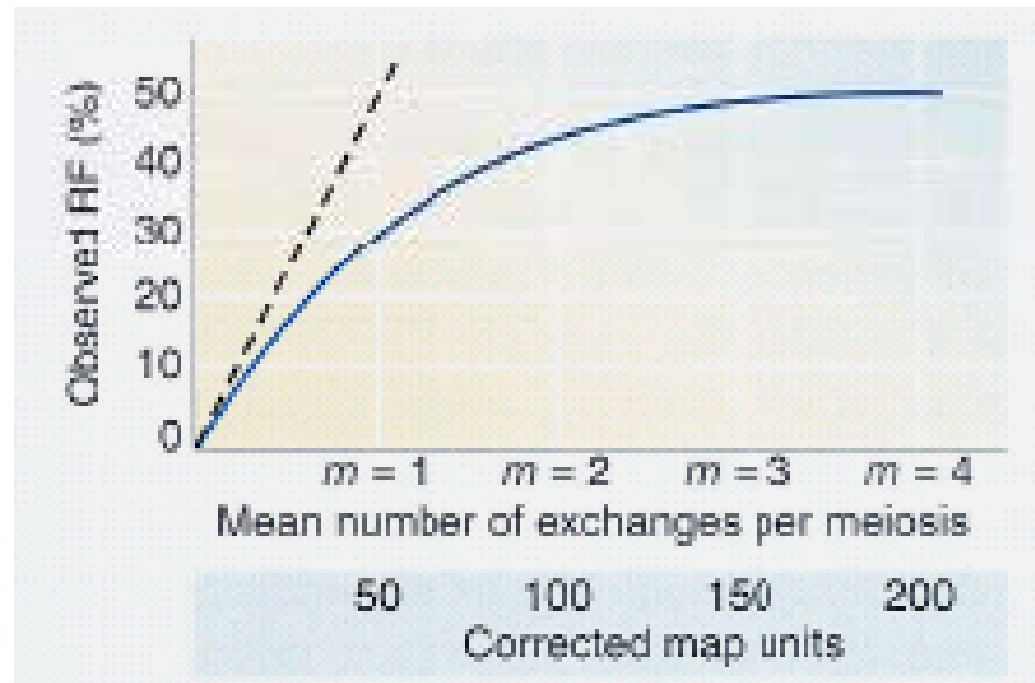
1	2	3	4	5	6	7
Ab	AB	Ab	AB	Ab	AB	AB
Ab	AB	Ab	AB	Ab	AB	AB
ab	Ab	Ab	ab	aB	ab	AB
ab	Ab	Ab	ab	aB	ab	AB
AB	aB	aB	Ab	Ab	AB	ab
AB	aB	aB	Ab	Ab	AB	ab
aB	ab	aB	aB	aB	ab	ab
aB	ab	aB	aB	aB	ab	ab
3	47	421	2	39	1	1
<b>T</b>	<b>T</b>		<b>T</b>		<b>NPD</b>	<b>NPD</b>



Unterschätzung der korrekten B-Centromer Distanz wie immer aufgrund von Doppel-Crossover Ereignissen.

Centr. – B = 8,7 m.u.

# Rekombinationsfrequenz $\neq$ korrekte Kartendistanz



Für die korrekte Berechnung der Kartendistanz muss man die Anzahl von Rekombinationsereignissen in der Zielregion berücksichtigen!

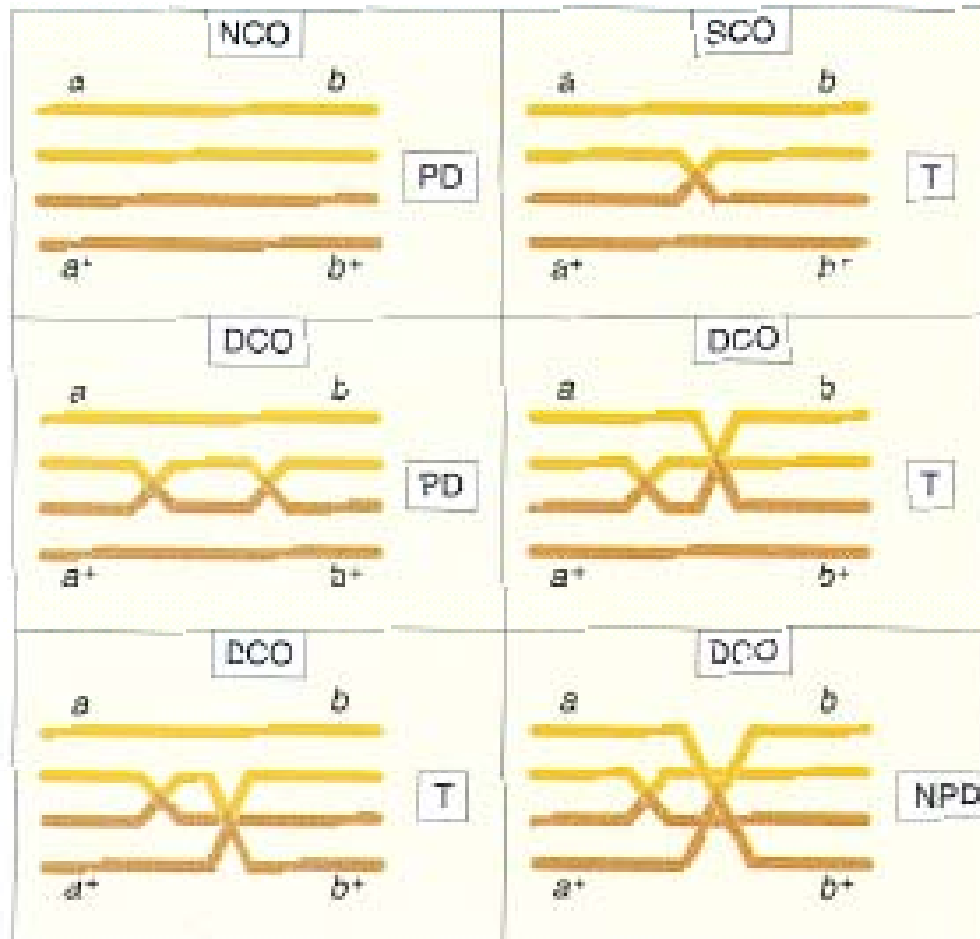
→ Häufigkeit von PD, NPD und T Klassen → noncrossover, single-crossover, double-crossover



# Berechnung der korrekten Kartendistanz

$$\text{Map distance} = [1/2 \times m] \times 100 \text{ m.u.}$$

$m$  = crossover pro Meiose  
(= Anzahl Rekombinante/n)



NCO = noncrossover  
SCO = single-crossover  
DCO = double-crossover

$\frac{1}{4}$  der DCOs = NPD

$$\rightarrow \text{DCO} = 4 \text{ NPD}$$

T aus DCO = 2 NPD

$$\rightarrow \text{SCO} = T - 2 \text{ NPD}$$

$$\text{NCO} = 1 - (\text{SCO} + \text{DCO})$$

$$\begin{aligned} m &= \text{crossover pro Meiose} \\ &= (\text{SCO} + 2 \times \text{DCO})/n \\ &= (T - 2 \text{ NPD} + 2 \times 4 \text{ NPD})/n \\ &= (T + 6 \text{ NPD})/n \end{aligned}$$

$$\rightarrow \text{Map distance} = (1/2 \times m) \times 100 = [1/2 \times (T + 6 \text{ NPD})/n] \times 100 \text{ m.u.}$$

1	2	3	4	5	6	7
<i>Ab</i>	<i>AB</i>	<i>Ab</i>	<i>AB</i>	<i>Ab</i>	<i>AB</i>	<i>AB</i>
<i>Ab</i>	<i>AB</i>	<i>Ab</i>	<i>AB</i>	<i>Ab</i>	<i>AB</i>	<i>AB</i>
<i>ab</i>	<i>Ab</i>	<i>Ab</i>	<i>ab</i>	<i>aB</i>	<i>ab</i>	<i>AB</i>
<i>ab</i>	<i>Ab</i>	<i>Ab</i>	<i>ab</i>	<i>aB</i>	<i>ab</i>	<i>AB</i>
<i>AB</i>	<i>aB</i>	<i>aB</i>	<i>Ab</i>	<i>Ab</i>	<i>AB</i>	<i>ab</i>
<i>AB</i>	<i>aB</i>	<i>aB</i>	<i>Ab</i>	<i>Ab</i>	<i>AB</i>	<i>ab</i>
<i>aB</i>	<i>ab</i>	<i>aB</i>	<i>aB</i>	<i>aB</i>	<i>ab</i>	<i>ab</i>
<i>aB</i>	<i>ab</i>	<i>aB</i>	<i>aB</i>	<i>aB</i>	<i>ab</i>	<i>ab</i>
3	47	421	2	39	1	1
<b>T</b>	<b>T</b>		<b>T</b>		<b>NPD</b>	<b>NPD</b>

Map distance =  **$(1/2 \times m) \times 100$**  =  $1/2 \times [(T + 6 \text{ NPD})/n] \times 100 \text{ m.u.}$

$$\rightarrow = [1/2 \times [(3 + 47 + 2) + 6 \times (1 + 1)]/514]] \times 100$$

$$= 50 \times 0,124 = 6,2 \text{ m.u.}$$

